AMRESCO　Ready PCR Mix, 2X（N806-2X1.25ML)
取扱説明書

本製品は試薬を追加すること無く、PCR 反応とアガロースゲル電気泳動を 1 ステップで可能にします。ローディングバッファーとバンド検出のための蛍光色素はすべて反応ミックスの中にあらかじめ含まれております。ユーザーはプライマーとテンプレート DNA を準備するだけです。

本製品は 2X 反応バッファー、AMRESCO'S Extender Taq polymerase ブレンド、dNTP、電気泳動トラッキング色素、非変異原性 EzVISION 色素が混合されています。PCR 反応が終了すれば、直接ゲルのローディングすることが出来、泳動中にトラッキング色素は赤でご覧いただけます。（1%ゲルで約 10bp の位置の目安です）電気泳動が終わると、ゲル染色や脱色をすることなく、標準的な UV イルミネーターでバンドを検出していただけます。

【内容量】

●N806-2X1.25ML

・Ready PCR Mix, 2X 1本

【保存温度】

-20℃保存

凍結融解を 15 回繰り返し可能です

【使用方法】

標準的な PCR 反応：

以下の手順はプライマー、テンプレート及び水を加えるだけです。

1. プライマー、テンプレート DNA、Ready Master Mix を氷上で融かします。
2. 以下の表に従って反応ミックスを作成します

内容	容量(50 uL 反応) uL	終濃度
Ready PCR Mix, 2X	25	1X
Forward Primer, 25uM	0.5-2.0	0.25-1.0uM
Reverse Primer, 25uM	0.5-2.0	0.25-1.0uM
5ng/uL テンプレート	0.2-10	1-50ng
Nuclease-free 蒸留水	適宜	-

3. 標準的な PCR 反応を行います。

ステップ	時間（分）	温度（℃）
A	2:00	95
B	00:30	95
C	00:30	55−65
D	1:00	68−72
B-Dのステップを 29 回繰り返す		
E	7:00	68
F	HOLD	4

4. PCR 産物をアガロースゲルにロードし、5-8V/cm で泳動して下さい。PCR 産物は標準的な UV トランスイルミネーターで検出することができます。この蛍光はブルースペクトルを示します。

＊＊検出のコツ＊＊

露光時間を EtBr よりも 2~3 倍長くとって下さい。

コロニースクリーニング

1. プライマーと Ready Master Mix を氷上で融かして下さい。

   プライマーの 1 つはインサートに相補的で、もう 1 つはプラスミドに相補的な配列でご用意下さい。

2. 必要な分だけ、以下の表に従い反応 Mix を作成して下さい。

内容	容量(50 uL 反応) uL	終濃度
Ready PCR Mix, 2X	25	1X
Forward Primer, 25uM	0.5-2.0	0.25-1.0uM
Reverse Primer, 25uM	0.5-2.0	0.25-1.0uM
Nuclease-free 蒸留水	適宜	-

3. コロニーをピックアップし、PCR 反応 Mix に懸濁します。
4. PCR 反応 Mix から 5uL と取り、96well プレートに入った抗生物質入りの LB 培地 200uL 加えます。

⇒ポジティブコントロールを正確に識別するために、PCR 反応チューブにふる番号とプレートの番号を一致させて下さい。

5. 十分な数のコロニーを選ぶと、96well プレートを 37℃で~8 時間インキュベートします。
6. PCR を行います。以下、反応の 1 例です。

ステップ	時間(分)	温度(℃)
A	5:00	95
B	00:30	95
C	00:30	55−65
D	1:00	68−72
B-Dのステップを 29 回繰り返す		
E	7:00	68
F	HOLD	4

7. PCR 産物をアガロースゲルにロードし、5-8V/cm で泳動して下さい。PCR 産物は標準的な UV トランスイルミネーターで検出することができます。この蛍光はブルースペクトルを示します。

＊＊検出のコツ＊＊

露光時間を EtBr よりも 2~3 倍長くとって下さい。

株式会社エムエステクノシステムズ

●大阪　電話 06-6396-6616

●東京　電話 03-3235-0673